

Use of protein fractions from okra seeds in cosmetics e.g. as replacement for casein in skin and hair care products

Patent Number : WO9846205

International patents classification : A61K-007/00; A61K-007/48; A61K-007/06; A61K-008/96; A61K-008/00; A61K-008/06; A61K-008/64; A61K-008/72; A61K-008/97; A61Q-017/00; A61Q-019/00; A61Q-019/08; A61Q-005/00; A61Q-005/02; A61Q-005/04; A61Q-005/06; A61Q-005/10; A61Q-005/12; A61K-008/04; A61K-008/30

• Abstract :

WO1998046205 A Use of protein fractions from Hibiscus esculentus (or okra) seeds in cosmetic compositions is new.

USE: The protein extract(s) are used e.g. as a replacement for lactic casein in cosmetic skin and hair care preparations such as face creams, body lotions, solar preparations, hygiene products, anti-wrinkle creams, shampoos, conditioners, permanent waving compositions or hair dyes.

ADVANTAGE: The okra seed proteins are wholly vegetable in origin, have better solubility properties than casein, and provide excellent cell nutritive properties, good softening and biofilmogenic properties, and have good anti-irritant, conditioning, restructuring, photoprotective, soothing, and anti-ageing action.

• Publication data :

Patent Family : WO9846205 A1 19981022 DW1998-49 A61K-007/48 Fre 30p * AP: 1998WO-FR00715 19980408
FR2762211 A1 19981023 DW1998-49 A61K-007/48 Fre AP:
1997FR-0004853 19970416
AU9873400 A 19981111 DW1999-12 A61K-007/48 Eng FD:
Based on WO9846205 A AP: 1998AU-0073400 19980408
EP-975322 A1 20000202 DW2000-11 A61K-007/48 Fre FD:
Based on WO9846205 A, Based on WO9846205 A AP: 1998EP-0920593 19980408, 1998WO-FR00715 19980408
KR2001006358 A 20010126 DW2001-52 A61K-007/48 Kor AP:
1999KR-0709444 19991014

• Patentee & Inventor(s) :

Patent assignee : (COGN-) COGNIS FRANCE SA
(SERO-) LAB SEROBIOLOGIQUES SA
Inventor(s) : GILLES P, PAULY G

JP2001518910 W 20011016 DW2001-76 A61K-007/00 Jpn 31p FD: Based on WO9846205 A AP: 1998JP-0543552 19980408, 1998WO-FR00715 19980408
EP-975322 B1 20020313 DW2002-19 A61K-007/48 Fre FD:
Based on WO9846205 A, Based on WO9846205 A AP: 1998EP-0920593 19980408, 1998WO-FR00715 19980408
DE69804203 E 20020418 DW2002-34 Ger FD: Based on EP-975322 A, Based on WO9846205 A AP: 1998DE-6004203 19980408, 1998EP-0920593 19980408, 1998WO-FR00715 19980408

US6379719 B1 20020430 DW2002-35 A61K-006/00 Eng AP: 2000US-0713209 20001116, Cont of 1998WO-FR00715 19980408, Cont of 1999US-0403256 19991018
ES2175706 T3 20021116 DW2003-02 Spa FD: Based on EP-975322 A AP: 1998EP-0920593 19980408

Designated states : WO9846205 National States: AU CA JP KR
US Regional States: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE
EP-975322 Regional States: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE
EP-975322 Regional States: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE

Priority n° : 1997FR-0004853 19970416

Covered countries : 23

Publications count : 10

• Accession codes :

Accession N° : 1998-583221 [49]
Sec. Acc. n° CPI : C1998-174442

• Derwent codes :

Manual code : CPI: D08-B03 D08-B04
D08-B05 D08-B06 D08-B09A
Derwent Classes : D21

• Update codes :

Basic update code : 1998-49
Equiv. update code : 1998-49; 1999-12;
2000-11; 2001-52; 2001-76; 2002-19; 2002-34; 2002-35; 2003-02

Others :

ICAA	<p>A61K-008/96 [2006-01 A F I R - -]; A61K-008/00 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/06 [2006-01 A - I R - -]; A61K-008/64 [2006-01 A - I R - -]; A61K-008/72 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/97 [2006-01 A - I R - -]; A61Q-017/00 [2006-01 A - I R - -]; A61Q-019/00 [2006-01 A - I R - -]; A61Q-019/08 [2006-01 A L I R - -]; A61Q-005/00 [2006-01 A L I R - -]; A61Q-005/02 [2006-01 A L I R - -]; A61Q-005/04 [2006-10 A L I R - -]; A61Q-005/06 [2006-01 A - I R - -]; A61Q-005/10 [2006-01 A L I R - -]; A61Q-005/12 [2006-01 A - I R - -]</p>
ICCA	<p>A61K-008/96 [2006 C F I R - -]; A61K-008/00 [2006 C L I R - -]; A61K-008/04 [2006 C - I R - -]; A61K-008/30 [2006 C - I R - -]; A61K-008/72 [2006 C L I R - -]; A61K-008/96 [2006 C - I R - -]; A61Q-017/00 [2006 C - I R - -]; A61Q-019/00 [2006 C - I R - -]; A61Q-019/08 [2006 C L I R - -]; A61Q-005/00 [2006 C L I R - -]; A61Q-005/02 [2006 C L I R - -]; A61Q-005/04 [2006 C L I R - -]; A61Q-005/06 [2006 C - I R - -]; A61Q-005/10 [2006 C L I R - -]; A61Q-005/12 [2006 C - I R - -]</p>
EC	<p>A61K-008/06C; A61K-008/64C; A61K-008/97; A61Q-005/06; A61Q-005/12; A61Q-017/00; A61Q-019/00</p>
PCL	<p>424776000 424401000 424725000</p>
EAB	<p>(WO1998046205 A1) The invention concerns the use of at least one protein fraction extracted from okra seeds and a cosmetic composition containing same. It concerns the use of a soluble protein fraction extracted from Hibiscus esculentus or Okra seeds as a substitute for casein in a cosmetic composition or product, said composition comprising between 0.01 % and 50.00 % of said fraction. (EP975322 A1) The invention concerns the use of at least one protein fraction extracted from okra seeds and a cosmetic composition containing same. It concerns the use of a soluble protein fraction extracted from Hibiscus esculentus or Okra seeds as a substitute for casein in a cosmetic composition or product, said composition comprising between 0.01 % and 50.00 % of said fraction. (US6379719 B1) The present invention relates to a use of at least one protein fraction extracted from Hibiscus esculentus seeds and to a cosmetic composition containing such a fraction. Use of at least one soluble protein fraction extracted from Hibiscus esculentusseeds or okra as a substitute for casein in a cosmetic composition or product, the composition containing between 0.01% and 50.00% of the fraction.</p>

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2001-518910
(P2001-518910A)

(43) 公表日 平成13年10月16日 (2001. 10. 16)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームト* (参考)
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	K
			J
			W
7/06		7/06	
7/48		7/48	
		審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 31 頁)	

(21) 出願番号 特願平10-543552
(86) (22) 出願日 平成10年4月8日 (1998. 4. 8)
(85) 翻訳文提出日 平成11年10月13日 (1999. 10. 13)
(86) 国際出願番号 PCT/FR 98/00715
(87) 国際公開番号 WO 98/46205
(87) 国際公開日 平成10年10月22日 (1998. 10. 22)
(31) 優先権主張番号 97/04853
(32) 優先日 平成9年4月16日 (1997. 4. 16)
(33) 優先権主張国 フランス (FR)
(81) 指定国 EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), AU, CA, JP, KR, US

(71) 出願人 ラボラトワール・セロビオロジツク (ソシエテ・アノニム)
フランス国、エフー54425・ピュルノイ (番地なし)
(72) 発明者 ボリ, ジル
フランス国、54000・ナンシー、リュ・デ・ベゴニア、5
(74) 代理人 弁理士 川口 義雄 (外2名)

(54) 【発明の名称】 Hibiscus esculentus 種子から抽出された少なくとも1つのタンパク質画分の使用及びこのような画分を含む化粧品組成物

(57) 【要約】

本発明は、Hibiscus esculentus 種子から抽出された少なくとも1つのタンパク質画分の使用及びこのような画分を含む化粧品組成物に関する。Hibiscus esculentus 種子又はオクラから抽出された少なくとも1つの可溶性タンパク質画分の化粧品組成物又は化粧品中のカゼインの代替品としての使用であって、前記組成物は、前記画分を0.01～50.00%含んでいる。

【特許請求の範囲】

1. 化粧品組成物又は化粧品における *Hibiscus esculentus* 又はオクラの種子からの少なくとも1つのタンパク質画分の使用。
2. カゼインの代替物として、*Hibiscus esculentus* 種子から抽出された少なくとも1つのタンパク質画分を含むことを特徴とする、化粧品組成物。
3. タンパク質画分が、様々な pH の水又は塩溶液による *Hibiscus esculentus* の全種子又は殻が剥かれた種子の非脱脂又は脱脂穀から抽出されることを特徴とする、請求項2に記載の化粧品組成物。
4. タンパク質画分が、超音波の影響下、水溶液中に抽出されることを特徴とする、請求項2又は3に記載の化粧品組成物。
5. タンパク質画分が、沈殿、吸着、イオン又はアフィニティ交換クロマトグラフィ、及び限外濾過から成る群から選ばれる精製プロセスによって精製されることを特徴とする、請求項2～4のうちのいずれか一項に記載の化粧品組成物。
6. 総タンパク質画分又は天然タンパク質画分が、ゲル上濾過された時に、見掛け分子量が1,000,000～1,500,000 Da、250,000～350,000 Da、130,000～180,000 Da、17,000～22,000 Da、3,300 Da、及び2,300～2,600 Da である、*Hibiscus esculentus* 種子から抽出された総タンパク質画分及び天然タンパク質画分の群から選ばれることを特徴とする、請求項2～5のうちのいずれか一項に記載の化粧品組成物。
7. タンパク質画分が、天然タンパク質から調製された化学的又は酵素的水解物からなることを特徴とする、請求項2～6のうちのいずれか一項に記載の化粧品組成物。
8. タンパク質画分が、天然タンパク質の重合によって得られることを特徴とする、請求項2～6のうちのいずれか一項に記載の化粧品組成物。
9. タンパク質画分が、グラフトによって化学的に修飾されていることを特徴とする、請求項1～7のうちのいずれか一項に記載の化粧品組成物。

10. 異なる見掛け分子量を有する少なくとも2つのタンパク質画分を含むことを特徴とする、請求項2～9のうちのいずれ

か一項に記載の化粧品組成物。

11. *Hibiscus esculentus* 種子中に天然に存在するすべての可溶性タンパク質画分から構成されている上記種子の抽出物を含むことを特徴とする、請求項2～9のうちのいずれか一項に記載の化粧品組成物。

12. *Hibiscus esculentus* 種子から抽出された1つ又は複数のタンパク質画分を0.01重量%～50.00重量%含むことを特徴とする、請求項2～11のうちのいずれか一項に記載の化粧品組成物。

【発明の詳細な説明】**Hibiscus esculentus種子から抽出された少なくとも1つのタンパク質画分の使用及びこのような画分を含む化粧品組成物**

本発明は、美容術、特に皮膚及び毛管への適用の分野に関しており、*Hibiscus esculentus*から抽出された少なくとも1つのタンパク質画分の使用及び少なくとも1つのこのような抽出物を含む組成物に関する。

Hibiscus esculentus(*Abelmoshus esculentus*又はオアイ科のオクラ)は、「gambô (オクラ)」というスペイン語の名前で米国及び東インドに導入されたアフリカ起源の植物である。これは2,000年以上も前からそのさやを得るために栽培されて来た植物種の1つである。

オクラは、世界の数多くの地域、例えばインド、マレーシア、フィリピン、アメリカ(中西部)、地中海地域、アフリカ、及びより一般的には熱帯地域において生育している。

野菜として未熟なままで食べられる果実(さや)は、細長く、

緑色で、先細り型のものである。これらは繊細な風味と粘液質の内部テクスチャーを有する。

含まれているガムのために有利なさやとは別に、新たなタンパク質源としての可能性を研究するために、*Hibiscus esculentus*の種子に関する研究も実施された。

この目的のために、オクラの様々な品種の全種子(外皮+内胚乳)の化学組成が決定された。

同様に、種子から得られた様々な物質(皮を剥かれた種子から調製された全穀、脱脂穀、濃縮物、及びタンパク質単離物)の特性(タンパク質溶解性、アミノ酸組成、乳化能力、発泡能力、栄養価)を、食品としての目的のために調べた(例えばBryant LA、Montecalvo J、Morey KS、Loy Bの「オクラ種子物質の加工处理的、機能的、及び栄養的特性(Processing, functional and nutritional pr

operties of okra seed products)」、Journal of food science、第53巻、No. 3、818-816)。

オクラ種子は、乾燥物質に対して次の物質（重量％）：

- タンパク質17.7～21.8%
- 脂質14.7～20.06%
- 灰分4.33～4.62%
- 水6.84～7.92%
- ゴシポール0.0032%、

及び特に次の物質の微量：

- カルシウム： 282.26mg/100g
- 鉄： 10.26mg/100g
- チアミン： 0.69mg/100g
- リボフラビン： 0.14mg/100g
- ナイアシン： 4.01mg/100g
- α -トコフェロール：30.4mg/100g

を主として含んでいる。

(Karakoltsidis PA、Constantidines SM
：「オクラ種子：新規タンパク質源 (Okra seed: a new protein source)」、J. Agric Food Chem.、1975年、23、No. 6、1204-1207、Wandawi AL：「2つのオクラ栽培変種

Abelmoschus esculentusの種子の化学組成 (Chemical composition of seeds of two okra cultivars Abelmoschus esculentus)」、Journal of agricultural and food chemistry、1983年、31No. 6、1355-1358)。

濃縮 *Hibiscus esculentus* 種子タンパク質又はタンパク質単離物のアミノ酸組成は、大豆タンパク質のアミノ酸組成に似ており、カゼインのアミノ酸組成に近い（下記表参照）。

アミノ酸 g / 窒素 16g	Hibiscus (種子) Karakotsidis ら Mandawi AL	Hibiscus (種子) Bryant ら	タンパク質 濃縮物 Bryant LA ら	タンパク質 単離物 Bryant LA ら	大豆(種子) Karakotsidis ら	カゼイン Karakotsidis ら
Asp	11.82~15.47	11.57	10.89	12.12	17.00	7.11
Thr	3.02~4.38	2.86	3.37	2.90	5.47	4.65
Ser	5.25~6.71	5.07	5.23	4.97	7.42	6.02
Glu	20.48~22.08	15.91	19.15	17.35	21.05	21.19
Pro	3.83~6.06	3.79	4.88	4.98	7.71	11.54
Gly	5.79~6.66	4.78	7.77	4.16	4.32	1.97
Ala	5.89~6.66	4.83	4.53	4.59	6.13	3.07
Val	4.0~6.4	4.24	4.42	4.33	5.26	6.72
Cys	1.54~2.53	3.63	1.89	1.90	1.61	0.36
Met	1.29~1.85	1.83	2.18	2.21	1.25	2.78
Ile	3.15~1.65	2.96	3.06	3.13	4.46	5.40
Leu	6.68~8.47	6.21	6.96	6.97	9.35	9.49
Tyr	3.6~3.83	3.46	5.15	4.03	3.72	5.81
Phe	3.93~4.7	4.41	4.80	4.85	5.26	5.23
Lys	7.24~8.9	6.22	6.19	6.47	8.00	8.80
His	1.78~2.99	2.34	3.61	3.83	2.67	2.91
Arg	11.04~12.46	11.17	10.02	9.98	10.07	3.74
Trp	0.85~0.96	2.02	2.57	2.03	nd	nd

カゼインに関しては、トレオニン、セリン、グルタミン酸、バリン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニン、リシン、及びヒスチジンの近い含量が特に注目される。

従って前記様々な研究は、食品という観点からの潜在的なタンパク質源としての *Hibiscus esculentus*

種子の価値を示している。

さらには、*Hibiscus esculentus* の果実からの加熱抽出及

び／又は加圧抽出によって得られた粘性液体物質の皮膚科学的目的での使用（F R-A-2, 679, 443）、並びに未熟な*Hibiscus esculentus*種子から抽出された多糖類から構成されている粉末物質の化粧品への使用（J P-A-57/199969）もまた知られている。

さて、本発明者らは、*Hibiscus esculentus*種子の抽出物を化粧品に直接使用することが可能であること、及び*Hibiscus esculentus*又はオクラの種子から抽出された少なくとも1つの好ましくは可溶性タンパク質画分を、特にカゼインの代替物として化粧品組成物又は化粧品に使用すると驚くほど有利な特異的性質を有する組成物又は製品を生じることを発見した。

かくして、強い細胞栄養力、滑らかにするバイオフィルム形成作用、コンディショニング、リストラクチャリング、及び修復作用、並びに抗刺激性、日光からの保護、鎮静、及び皮膚の老化防止作用が発見された。

前記抽出物は、スキンケア及び衛生用（顔又は体用製品、昼

間又は夜用製品、日光用製品、しわ防止衛生製品、スリミング用製品）のみならず、ヘアケア及び衛生の分野（ローション又はシャンプー；クリーム；ムース；保護製品、修復製品、柔軟剤、皮膜形成剤、日光からの保護剤；パーマ及びカラーリング製品）にも用いることができる。

タンパク質は、植物タンパク質の通常の抽出方法によって、及び特にBryant LA、Montecalvo J、Morey KS、及びLoy Bによる前記論文に記載されている、当業者に知られているタンパク質濃縮物又は単離物の調製方法によって調製することができる。

原料は、*Hibiscus esculentus*種子又は種子の穀（flour）から構成されている（タンパク質含量＝乾燥物質に対して21.6％）。

このようにして得られた穀は、45℃におけるヘキサン中の抽出によって脱脂してもよい（有利には連続する3回抽出）。

油収率は、出発原料が全種子穀であるか、あるいは篩い分けによって外皮又は外殻が一部取り除かれた種子からの穀であるかによって、16.2～23.9重

量%である。

種子外殻が一部取り除かれた脱脂穀は、タンパク質を37～

44重量%含んでいる($N \times 6.25$)。

Hibiscus esculentus 又はオクラの種子の抽出物を得て調製するための様々な方法を、以後、例証的な非限定的実施例によって記載するものとする。

実施例1

次の媒質：

- － 蒸留水、
- － 1 g/l の NaCl を含む蒸留水、
- － 5 g/l の NaCl を含む蒸留水、
- － 10 g/l の NaCl を含む蒸留水、

1 リットル中に非脱脂強化穀（穀廃棄物が一部取り除かれたもの）100 g を淵加する。

15 分間の攪拌後、溶液の pH を NaOH 4 N で pH 9 に調節する。

抽出は、pH 9 を維持しつつ室温で1時間半実施される。

遠心分離後、上部脂質層を除去し、水性上澄み液を採取する。

金色がかった黄色の上澄み液を、pH = 7.5 に調節し、ついで $0.22 \mu m$ で濾過する。溶媒の塩含量が高くなればなるほど、濾過が容易であることが分る。

濾過物のタンパク質含量は、ビウレット方法で測定される。上澄み液は、依然として乳光色である。

下記結果が得られる。

抽出溶媒	ビウレット濾過抽出物における タンパク質 (g/l)
蒸留水	16.9
NaCl 1 g/l	13.3
NaCl 5 g/l	9.5
NaCl 10 g/l	10.2

実施例 2

強化脱脂穀（穀屑が取り除かれたもの）25 gを、塩化ナトリウム5 g/lを含む蒸留水250 mlに添加する。

15分間の攪拌後、溶液のpHを、テストに従って次のpHに調節する。すなわち6-6.5-7-7.5である。

抽出を室温で1時間半実施する。

遠心分離後、上澄み液を回収し、ついで5 μ mで濾過する。

下記結果が得られる。

pH	ビウレットタンパク質 (g/l)	タンパク質 (N×6.25) (g/l)
6	12.5	13.8
6.5	13.3	14.8
7	14.6	15.1
7.5	15.5	16.1

実施例 3

強化脱脂穀25 gを、塩化ナトリウム5 g/lを含む蒸留水250 mlに添加する。

15分間の攪拌後、溶液のpHをpH8に調節する。

抽出を室温で6時間実施する。

遠心分離後、上澄み液を回収し、pHをpH7.5に調節し、ついで溶液を5 μ mで濾過する。

下記結果が得られる。

時間 (h)	ビウレットタンパク質 (g/l)
2	18.45
4	20.3
6	19.7

実施例 4

強化脱脂穀 25 g を、塩化ナトリウム 5 g/l を含む蒸留水 250 ml に澪加する。

15 分間の攪拌後、溶液の pH を pH 7.5 に調節する。

抽出を 45℃ で 6 時間実施する。

遠心分離後、上澄み液を回収し、この pH を pH 7.5 に調節し、ついで溶液を 5 μ m で濾過する。

下記結果が得られる。

時間 (h)	ビウレットタンパク質 (g/l)
2	18.0
4	18.1
6	13.8

実施例 5

強化脱脂穀 300 g を、塩化ナトリウム 5 g/l を含む蒸留水 3 l に添加する。

15 分間の攪拌後、溶液の pH を pH 7.5 に調節する。

抽出を 50℃ で 2 時間実施する。

速心分離後、上澄み液を回収し、ついで 5 μ m で濾過する。

下記結果が得られる。

ビウレットタンパク質： 13.7 g/l

ケルダールタンパク質： 14.6 g/l

上澄み液 1 リットルを除去し、4 N 硫酸を用いてこの pH を pH 4.5 に調節する。

30 分の攪拌後、溶液を遠心分離し、沈殿物を採取し、ついで pH 4.5 で水

洗浄する。ついでこれを凍結乾燥する。タンパク質含量が85.3重量%である
この粉末が得られる。

実施例6

塩化ナトリウム5g/lを含む蒸留水6l中、強化脱脂穀600gを、サーモ
スタット制御されている反応器で攪拌しつつ添加する。測定されたpHをpH7
.5に連続的に調節する。

溶液を、蠕動ポンプ（超音波力600W一周波数20,000Hz）により一
体型通路（integral passage）を備えた超音波管にポンプ導入
する。流量は60l/hである。

継続装入により2回の不連続通過が生じる（抽出物は、超音波管を通過した後
に第二反応器に採取される）。

遠心分離、ついで5μm上の濾過後、下記結果が得られる。

- 第一回目の通過後の抽出物からのタンパク質：14.2g/l
- 第二回目の通過後の抽出物からのタンパク質：15.2g/l

実施例7

塩化ナトリウム5g/lを含む蒸留水6l中、強化脱脂穀300gを、サーモ
スタット制御されている反応器に攪拌しつつ添加する。測定されたpHを連続的
にpH7.5に調節する。

溶液を、実施例6の一体型通路の超音波管の閉鎖回路に1時

間連続的に導入する（超音波力：700W一周波数20,000Hz）。流量は
60l/hである。

冷水の循環によって、容器内のこの溶液の温度を約33℃に保持させる。

サンプルを、抽出の15分後、30分後、45分後に採取する。

遠心分離、ついで5μm上の抽出物の濾過後、下記結果が得られる。

時間 (分)	ビウレット濾過抽出物中のタンパク質 (g/l)
15	8.23
30.8.56	
45	8.89
60	9.89

実施例 8

蒸留水 25.0 kg を反応器に導入し、次の操作を連続して実施する：

- － アオイ科植物 (h i b i s c u s) の全種子を粉砕して得られた全穀 2.5 kg を攪拌しながら分散すること、
- － 15 分間の分散後、NaOH 4 N で pH 9 に調節する

こと、

- － NaOH 4 N の添加によって pH 9 に維持しつつ、室温で 2 時間攪拌しながら抽出すること、
- － 5,000 g で 10 分間遠心分離すること、
- － 濁ったベージュ色の上澄み液を回収すること、
- － H₂SO₄ 4 N の添加によって pH 7.5 に調節すること、
- － 遠心分離すること、
- － 再遠心分離によって清澄化すること、
- － 乳光色の上澄み液を回収すること、
- － 0.5 μ m まで濾過すること、
- － 上澄み液を回収すること、
- － スプレーすること。

このように透明なベージュ色粉末を回収することができた。スプレー収率は 62.7 重量%である。

実施例 9

実施例 8 の第一変形例として、次の操作を実施することもできる：

- － 実施例 8 によって調製された抽出物の一部分の pH を、H₂SO₄

4 Nの添加によってp H 4. 1に調節すること、

- + 4 ℃で放置すること（沈殿物の形成—総容積の約5 0 %）、
- 1 5 分間、5, 0 0 0 gの遠心分離を行なうこと、
- p H 4. 1において蒸留水でキャップを洗浄すること、
- 1 5 分間、5, 0 0 0 gの遠心分離を行なうこと、
- 沈殿物を回収すること、
- 蒸留水で沈殿物を再構成すること（沈殿に先立って容積の1 0 %）、
- 攪拌しつつN a O H 4 Nの添加によってp H 7. 5に調節すること、
- 可溶性化及び均質化を補助するために均質化すること、
- 不溶性物質を除去するために5, 0 0 0 gで1 0 分間遠心分離を行なうこと、
- タンパク質濃縮物をスプレーすること（乾燥抽出物をベースとしてのスプレー収率：8 2. 9 0 重量%）。

実施例 1 0

実施例 8 の第二変形例として、次の操作を実施することもできる：

- 実施例 8 において調製された抽出物の一部分のp Hを、

H₂ S O₄ 4 Nの添加によってp H 5に調節すること、

- 室温で1 時間放置すること、
- 遠心分離を行なうこと、
- 沈殿物を採取すること、
- 洗浄段階を実施せずに沈殿前に容積の1 0 %において、この沈殿物を再構成すること、
- 攪拌しつつN a O H 4 Nの添加によってp H 7. 5に調節すること、
- 可溶性化及び均質化を補助するために均質化すること、
- 不溶性物質を除去するために5, 0 0 0 gで1 0 分間速心分離を行なうこと、
- タンパク質濃縮物を噴霧すること。

前記の様々な方法によって抽出された画分のスーパーローズ（s u p e r o s

e) 12HR型カラム上のゲル透過分析によって、少なくとも6つの様々な画分が、添付図面図1～6のダイヤグラムに示されているように特徴決定される。

図1は、*Hibiscus esculentus*の全種子殻の抽出物のタンパク質の分子量分布を示す（抽出：水中室温において2時間、 $\text{pH}=9$ ）。

図2は、*Hibiscus esculentus*の殻が剥かれた種子殻の抽出物のタンパク質の分子量分布を示す（抽出：水中室温において1.5時間、 $\text{pH}=9$ ）。

図3は、*Hibiscus esculentus*の殻が剥かれた種子殻の抽出物のタンパク質の分子量分布を示す（抽出： NaCl 10 g/l 中室温において1.5時間、 $\text{pH}=9$ ）。

図4は、*Hibiscus esculentus*の殻が剥かれた種子殻の抽出物のタンパク質の分子量分布を示す（超音波管における抽出、 NaCl 5 g/l 中1時間、 $\text{pH}=7.5$ ）。

図5は、*Hibiscus esculentus*の全種子殻の抽出物の $\text{pH}=4.1$ での沈殿によって得られたタンパク質濃縮物のタンパク質の分子量分布を示す。

図6は、*Hibiscus esculentus*の全種子殻の抽出物の $\text{pH}=5$ での沈殿によって得られたタンパク質濃縮物のタンパク質の分子量分布を示す。

下記一覧表（2つの部分に分けられたもの）は、抽出された様々なタンパク質画分の分布を示す。

抽出条件	pH=9 水	pH=9 NaCl 1 g/l	pH=9 NaCl 5 g/l	pH=9 NaCl 10 g/l	pH=6.5 NaCl 5 g/l	pH=8 NaCl 5 g/l
						4時間
見かけ分子量 >500,000 Da	13.7	9.8	4.4	3.7	2.9	2.7
見かけ分子量 100,000~ 500,000 Da	12.2	11.2	10.7	14.4	9.7	17.3
見かけ分子量 30,000~ 100,000 Da	4	3.3	7.6	7.7	14.7	7.9
見かけ分子量 5,000~ 30,000 Da	41.2	44.7	46.3	51.2	49.6	45.9
見かけ分子量 ≤5,000 Da	28.9	31	31	23	23.1	26.2

抽出条件	pH=7.5 NaCl 5 g/l	pH=7.5 NaCl 5 g/l	pH=7.5 NaCl 5 g/l	pH=9 H ₂ O	タンパク質濃縮物 (pH4.1)	タンパク質濃縮物 (pH5)
	6時間	15分 US	60分 US	全穀		
見かけ分子量 >500,000 Da	4	13	20.9	30.5	35.5	46.6
見かけ分子量 100,000~ 500,000 Da	13.1	14.2	3.8	15	12.2	17.5
見かけ分子量 30,000~ 100,000 Da	4.3	6.1	15.1	5.9	8.1	7.3
見かけ分子量 5,000~ 30,000 Da	50.2	46	35.3	26.4	35.4	22.6
見かけ分子量 ≤5,000 Da	28.4	20.7	24.9	22.2	8.8	6

前記6つのタンパク質画分は次のものから構成される：

ー 非常に高い分子量を有する画分（F1と呼ばれるもの）（カラム検定（calibration）によれば、1,000,000~1,500,00Da

)、

－ 主として全種子穀の抽出物に見られる250,000～350,000Daの分子量を有する画分(F2と呼ばれるもの)、

－ 130,000～180,000Daの分子量を有する画分(F3と呼ばれるもの)、

－ 17,000～22,000Daの分子量に対応する画分(F4と呼ばれるもの)、

－ 各々約3,300Da(F5)及び約2,300～2,600Da(F6)の2つの分子量画分。

抽出条件によれば、画分F1は、これらのタンパク質の2.7～50.00%を構成し、画分F4は、総タンパク質の16～52%(平均40%)を構成する。

最初の抽出溶媒の塩含量が高ければ高いほど、画分F1は小さくなることが分る。

記載されたプロセスの実施例によって得られた抽出物は、液

体形態で直接、あるいは従来の脱水技術(スプレー、凍結乾燥等)によって乾燥させた後に用いることができる。

前記実施例によって抽出されたタンパク質画分は、種子における自然の状態と比較して、次の利点を有する。すなわち、同一の天然の化学構造を有し、部分又は完全精製でき(すなわち他の種子成分、例えば脂質、繊維、サッカロース等が除去されている)、及び用いられた抽出及び/又は精製方法の関数として様々でありうる組成を有する(粗抽出物の総タンパク質、タンパク質濃縮物、又は1つ又は複数の精製タンパク質画分)。

乳カゼインに関して、カゼインに近いアミノ酸組成を維持しつつ、化粧品分野において再生しうる所望の植物起源に加えて、改良された可溶性が認められる。この組成については、皮膚への栄養、湿分補給、及び皮膜形成特性、及び体の表面の成長が知られている。

タンパク質画分は、当初の構造を変えることなく、その天然形態において、あ

るいは添付図面に示されているクロマトグラムの様々なピークに対応する抽出された画分のうちの2つ又は全部の天然の組合わせの形態において、あるいはまた単離形態

において用いることができる。すなわち、前記クロマトグラムの1つ又はそれ以上のピークに対応する1つ又はそれ以上の画分の使用である。

タンパク質画分はまた、下記処理のうちのどれかによって修飾又は機能化された形態において用いてもよい：

- － 重合化、
- － アオイ科植物 (h i b i s c u s) タンパク質の化学的加水分解、
- － アオイ科植物 (h i b i s c u s) タンパク質の酵素加水分解。このためには、動物、植物、微生物、又は真菌起源の抽出物に由来するプロテアーゼを用いて、アオイ科植物 (h i b i s c u s) タンパク質を修飾することができる。すなわち、ペプシン、トリプシン、キモトリプシン／パパイン、プロナーゼ、プロメライン／エンドプロテイナーゼ、テルミターゼ、B a c i l l u s s u b t i l i s、A s p e r g i l l u s N i g e r、及びA s p e r g i l l u s O r y z a e／s u b t i l i s i n eのプロテアーゼ、アルカラゼ、ニュートラーゼである。
- － 様々な微生物、例えばイースト菌 (S a c c h a r o m y c e s)、

カビ菌 (m o u l d f u n g a s u) (A s p e r g i l l u s型のもの)、細菌、例えばB a c i l l u s等による発酵用基質としてのアオイ科植物 (h i b i s c u s) タンパク質の使用による微生物転換。

- － 脱アミド化、スクシニル化、又はホスホリル化のような方法による化学的又は酵素的機能化、
- － 第四級化、
- － 糖分子又は脂質分子のグラフト。

本発明はまた、特に局部使用のための皮膚及び／又は体表面の成長のための化粧品組成物において、カゼインの代替物としてH i b i s c u s e s c u l e

n t u s 種子から抽出された少なくとも1つの好ましくは可溶性タンパク質画分を含むことを特徴とする組成物に関する。

本発明の特徴によれば、1つ又は複数のこのタンパク質画分は、様々なpHにおいて水又は塩溶液によって*H i b i s c u s e s c u l e n t u s*の全種子又は殻を剥かれた種子の非脱脂又は脱脂穀から抽出される。

本発明の好ましい実施態様によれば、1つ又は複数のタンパク質画分は、超音波の影響下、水溶液中で抽出され、1つ又は複数のこのタンパク質画分は、沈殿、吸収、イオン又はアフィ

ニティ交換クロマトグラフィ及び限外濾過から成る群から選ばれる精製プロセスによって精製される。

総タンパク質画分又は天然タンパク質画分は、ゲル上濾過された時に、見掛け分子量が1,000,000~1,500,000Da、250,000~350,000Da、130,000~180,000Da、17,000~22,000Da、3,300Da、及び2,300~2,600Daである、*H i b i s c u s e s c u l e n t u s*種子から抽出された総タンパク質画分及び天然タンパク質画分の群から選ばれる。

前記1つ又は複数のタンパク質画分は、天然タンパク質から調製された化学的又は酵素的水解物から構成されていてもよく、天然タンパク質の重合又は脱重合によって得ることもでき、あるいはグラフトによって化学的に修飾されてもよい。

本発明の第一実施態様によれば、化粧品組成物は、様々な見掛け分子量の少なくとも2つのタンパク質画分を含んでいる。

本発明の第二実施態様によれば、化粧品組成物は、すべてこれらの種子に本来存在する可溶性タンパク質画分から成る*H i b i s c u s e s c u l e n t u s*種子の抽出物を含んでいる。

請求項1~11のうちの1つに記載の前記化粧品組成物は、

好ましくは、前記プロセスの実施例のうちのいずれか1つにおいて得られた*H i*

biscus esculentus 種子から抽出された1つ又は複数のタンパク質画分を、0.01%~50.00重量%、好ましくは1~25重量%含むことを特徴とする。

本発明の非限定的実施態様として、*Hibiscus esculentus* 又はオクラ種子から抽出された少なくとも1つの可溶性タンパク質画分を含む様々な化粧品又は組成物を以下に記載する。

実施例1

顔及び体用のモイスチャライジング・スムージング・日中クリームの状態の本発明による化粧品は、例えば次に示された下記フラクションA、B、C、及びDから構成された重量組成を有していてもよい。

フラクションA：

－ クティーナ (C u t i n a) M D	14.00%
－ ユータノール (E u t a n o l) G	6.00%
－ セティオール (C e t i o l) B	6.00%
－ ユームルギン (E u m u l g i n) B 1	1.50%
－ ユームルギン (E u m u l g i n) B 2	1.50%

フラクションB：

－ 前記実施例1によるアオイ科植物 (<i>h i b i s c u s</i>) からの総天然タンパク質の抽出物	8.00%
--	-------

フラクションC：

－ アラントイン	0.20%
－ メチルパラベン	0.20%
－ ゲルマール115	0.30%
－ 蒸留水	62.00%

フラクションD：

－ 香料	0.30%
------	-------

前記日中クリームの調製及び生産方法は、フラクションAの75℃までの加熱、75℃におけるフラクションCの調製、タービン攪拌によるフラクションAの

フラクションBへの注入、約50℃でのフラクションCの添加、ついで室温までの遊星歯車式 (planetary) 攪拌の続行、及び最後にフラクションDの添加を必須に含んでいる。

実施例2

リストラクチャリング・アンティリントル・ナリッシング・リペアリング・夜間クリームの状態における本発明による化粧

品は、次に記載される下記フラクションA、B、C、及びDから構成されている重量組成を有していてもよいであろう。

フラクションA：

－ ミグリオール (Miglyol) 810	6.00%
－ ミリイ (Myrij) 51	3.00%
－ アルラトン (Arlatone) 983S	2.00%
－ ステアリン酸TP	4.00%
－ セチルアルコール	3.00%

フラクションB：

－ プロピレングリコール	3.00%
－ エレスタブ (Elestab) LS388	

(ラボラトワール・セロビオロジック社 (Laboratoires Serobiologiques)) 2.50%

－ 蒸留水	61.20%
-------	--------

フラクションC：

－ 前記実施例9による天然アオイ科植物 (hibiscus) タンパク質のスプレー抽出物 2.00%

－ 蒸留水	13.00%
-------	--------

フラクションD：

－ 香料	0.30%
------	-------

前記夜間クリームの調製及び生産方法は、フラクションA及びBの調製及びこ

れらの75℃までの加熱、タービン攪拌によるフラクションAのフラクションBへの注入、蒸留水中の噴霧物の攪拌によるフラクションCの溶質の（別々かつ即座の）調製、約50℃に冷却しつつフラクションCのエマルジョンA+Bへの添加、ついで約40℃において香料を添加しながら45℃から室温までの遊星歯車式攪拌の続行を必須に含んでいる。

実施例3

毛髪用プロテクティブ・コンディショニング・カバリング・ライトプロテクティブ・マイクロエマルジョンの形態の本発明による化粧品は、例えば次に記載される下記フラクションA、B、C、及びDから構成された重量組成を有している。

フラクションA：

－ プリイ (Brij) 96	11.80%
－ アルラトン (Arlatone) G	10.00%
－ パラフィン油	13.00%

フラクションB：

－ 蒸留水	53.70%
－ メチルパラベン	0.20%
－ エレスタブ (Elestab) 4112	

(ラボラトワール・セロビオロジック社 (Laboratoires Sérobiologiques)) 0.30%

フラクションC：

－ 前記実施例6によるタンパク質濃縮物の形態における天然アオイ科植物 (hibiscus) タンパク質 5.00%

－ 蒸留水	5.00%
-------	-------

フラクションD：

－ 香料	0.20%
－ トゥイーン20	0.80%

前記マイクロエマルジョンの調製及び生産方法は、フラクションA及びBの調製及びこれらの75℃までの加熱、タービン攪拌によるフラクションAのフラクシ

ョンBへの注入、漸進的冷却の実施及び約50℃におけるフラクション、ついでフラクションDの添加、及び室温への冷却及び完全均質化に至るまでの攪拌の続行を必須に含んでいる。

本発明は、添付図面において記載され例示されている実施態様に限定されるわけではないことは明白である。特に様々な要素の組成に関して、あるいは技術的に同等なものの置換による修正は、本発明の保護の範囲から逸脱することなく可能である。

【図1】

重量%

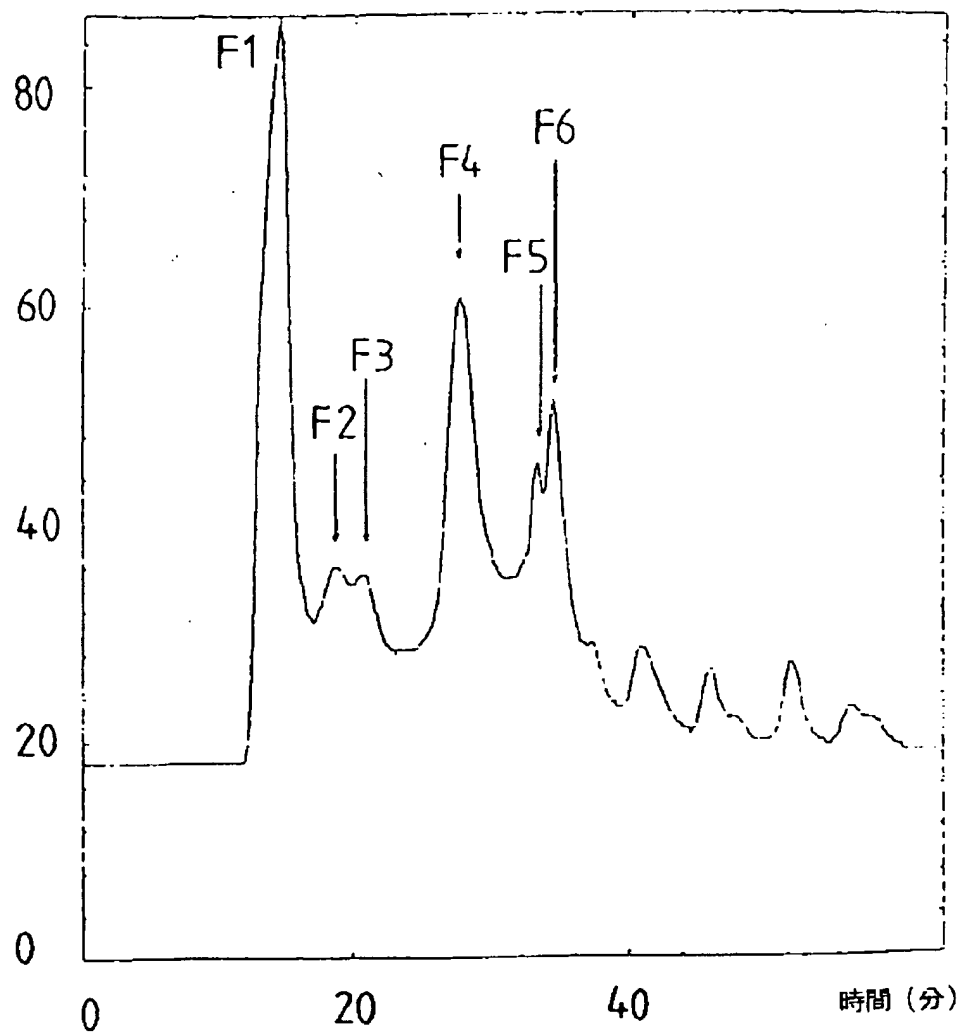


Fig- 1

【図2】

重量%

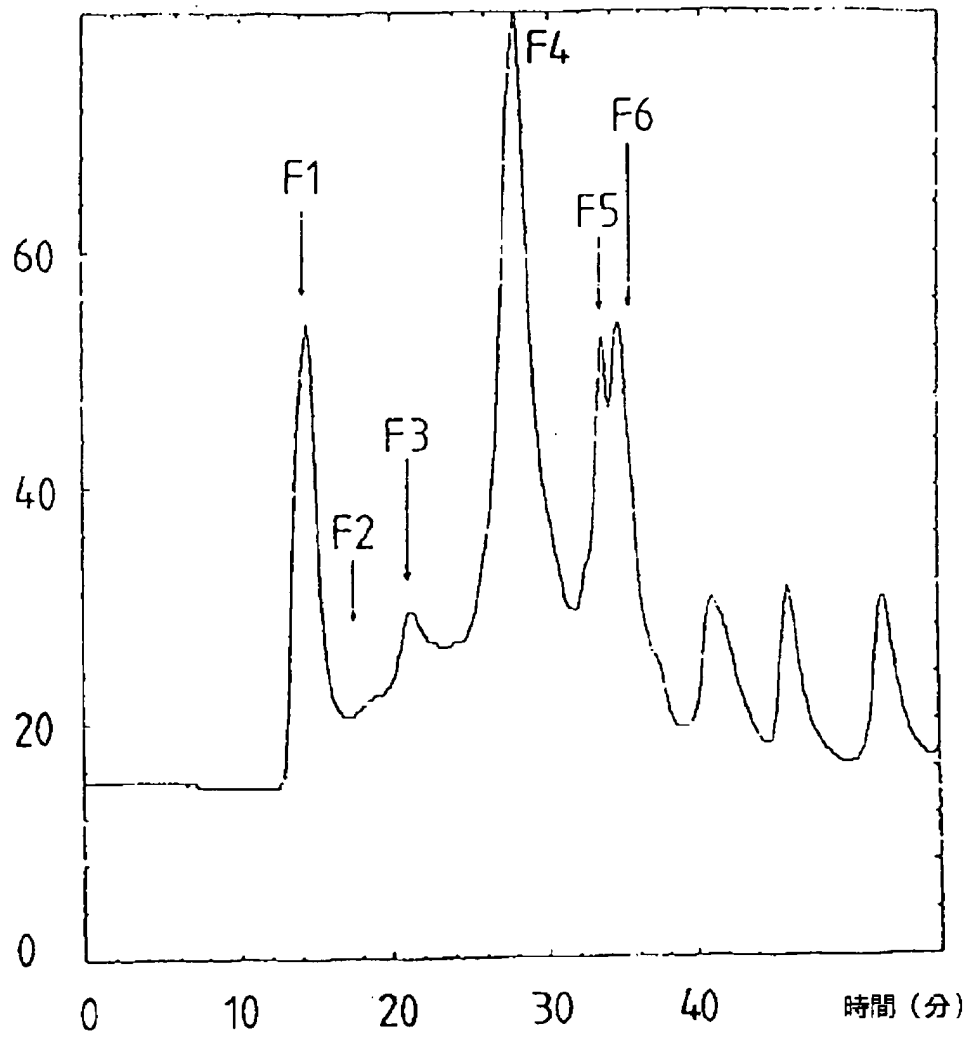


Fig-2

【図3】

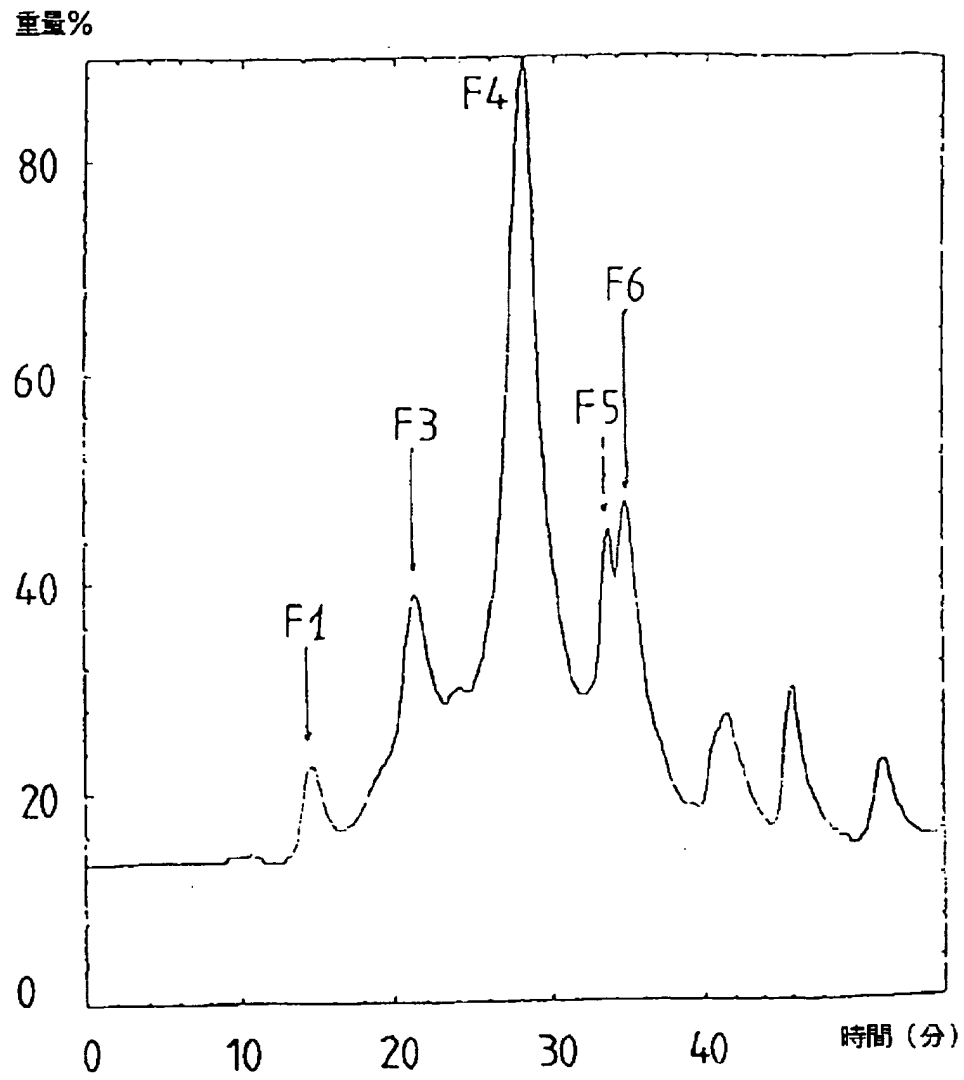


Fig-3

【図4】

重量%

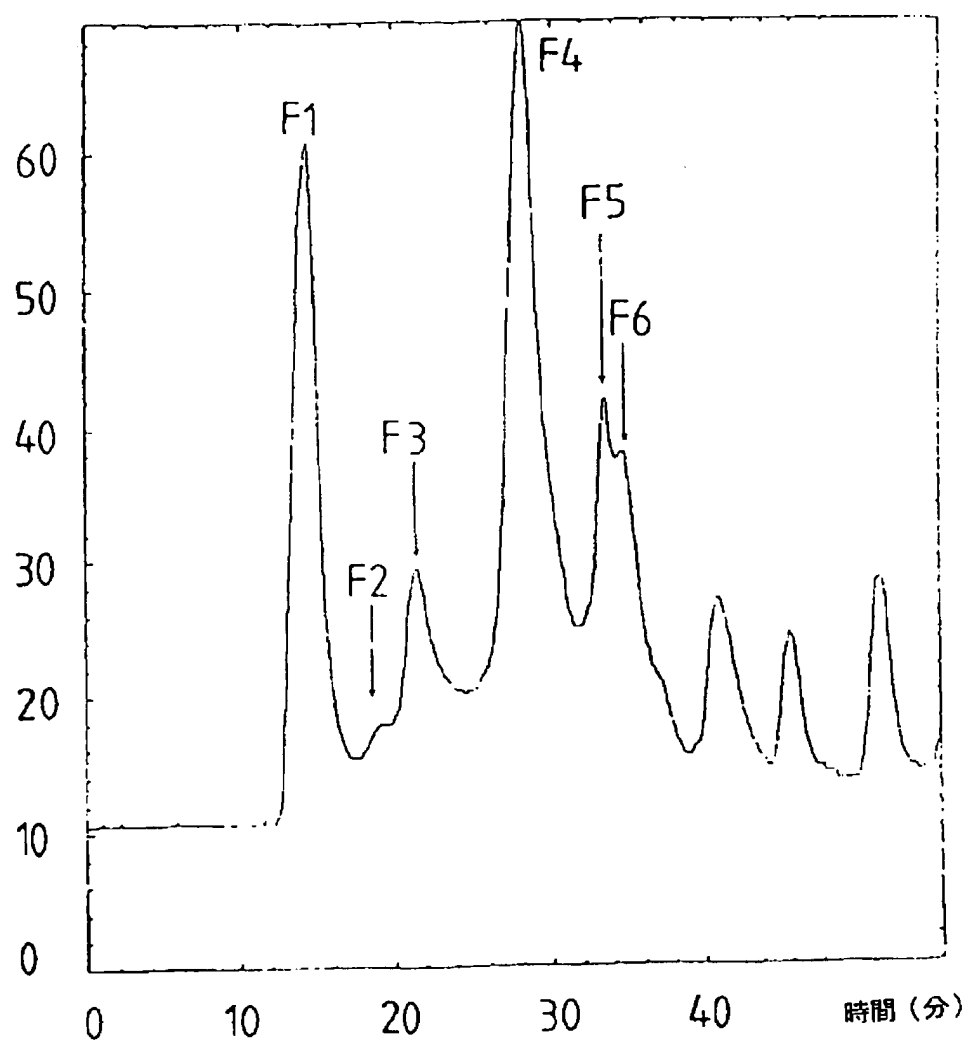


Fig-4

【図5】

重量%

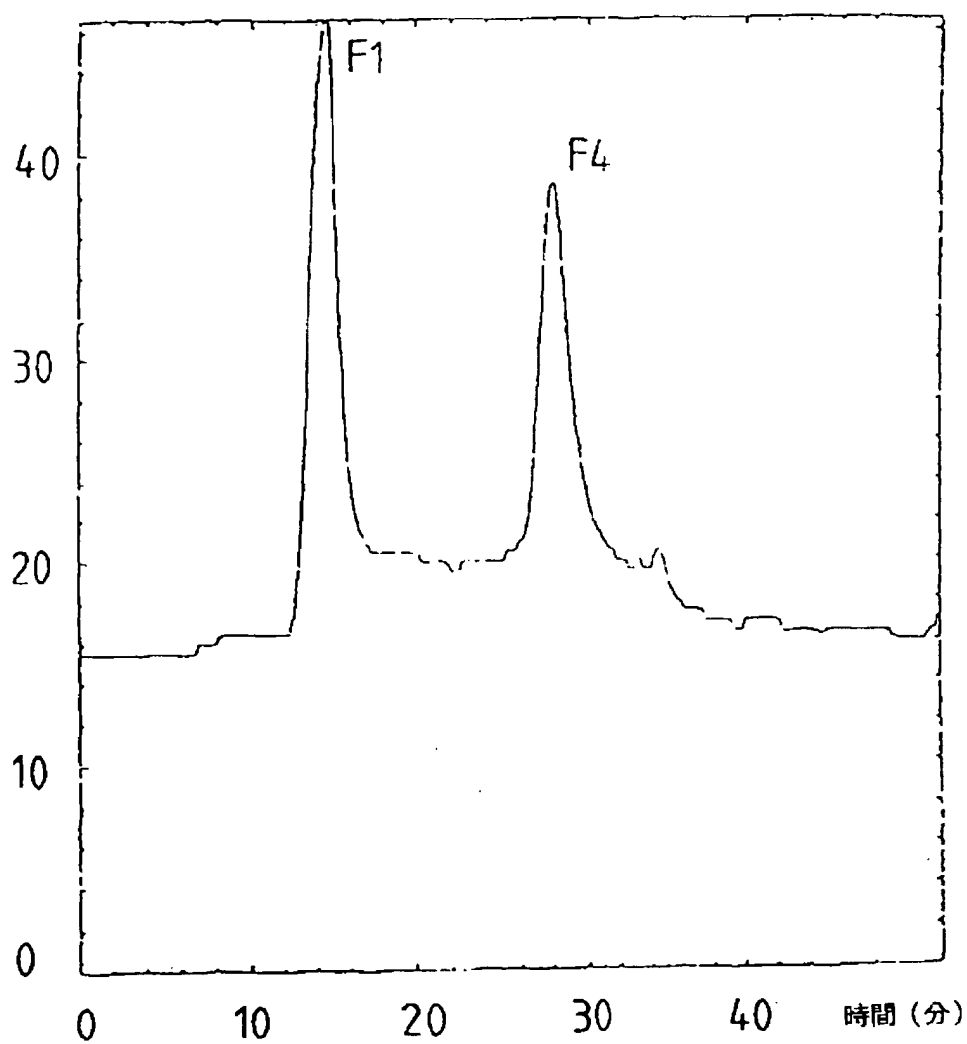


Fig-5

【図6】

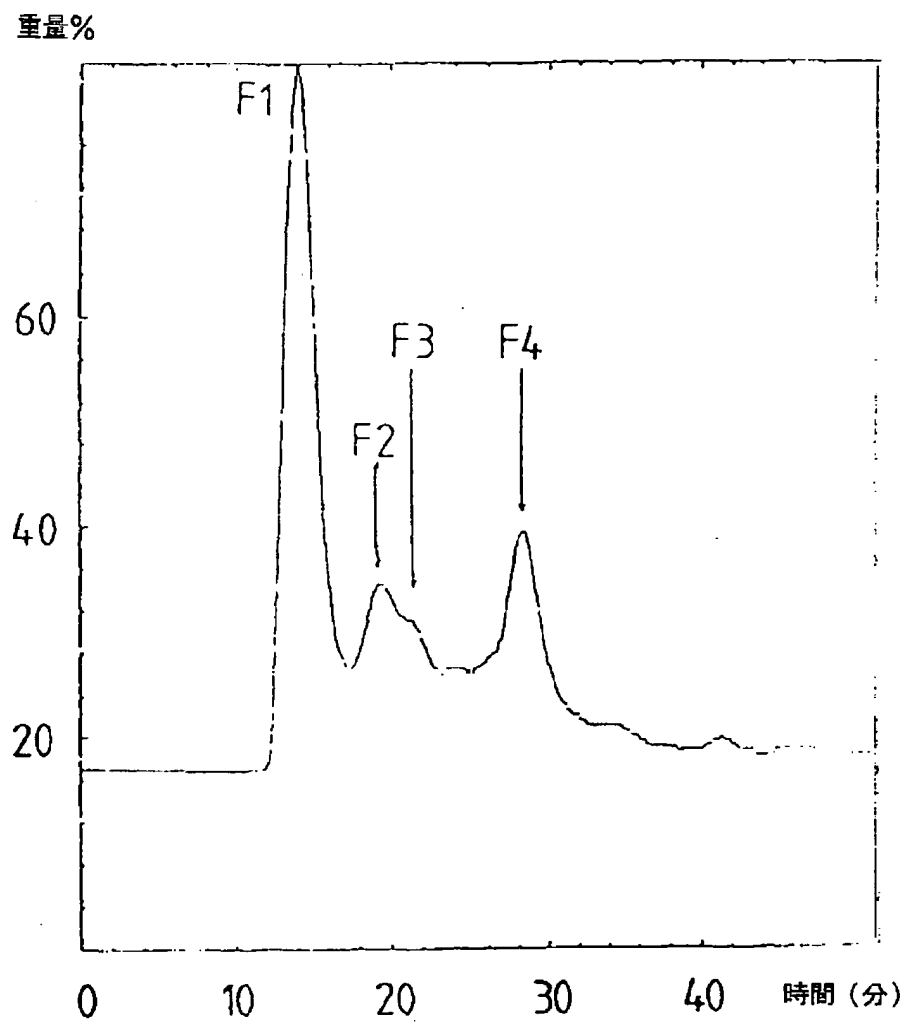


Fig-6

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K7/48 A61K7/06		I. National Application No. PCT/FR 98/00715	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC			
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K			
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched			
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
A	BRYANT ET AL.: "processing, functional, and nutritional properties of okra seed products" JOURNAL OF FOOD SCIENCE, vol. 53, no. 3, 1988, pages 810-816, XP002049248 cited in the application see the whole document ---	1-12	
A	DATABASE WPI Week 8327 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 83-702268 XP002049249 & JP 58 088 305 A (NIKKO CHEM CO) see abstract --- -/-	1-12	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.	
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>	
Date of the actual completion of the international search 31 July 1998		Date of mailing of the international search report 06/08/1998	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P. B. 5318 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3015		Authorized officer: Fischer, J.P.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No

PCT/FR 98/00715

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category ²	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
A	FR 2 679 443 A (FAURE) 29 January 1993 cited in the application see the whole document -----	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

national Application No

PCT/FR 98/00715

Parent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2679443 A	29-01-1993	NONE	